

〔課程-2〕

審査の結果の要旨

氏名 東 誉人

本研究は、シナプス形成・維持過程におけるシナプス動態についてより深い理解を得るために、BMP4 のシナプスの構造的安定性制御における機能を解析したものであり、下記の結果を得ている。

1. BMP4 の受容体である BMPRI の発現をウェスタンブロッティングにより確認した。さらに免疫染色法により BMP 受容体の海馬神経細胞内における局在を解析した。
2. 機能的な BMP4 シグナル経路が海馬神経細胞に存在するかどうかを検討するため、BMP4 添加後の Smad リン酸化の程度を特異的抗体により検出した。
3. BMP4 のシナプス形成に与える影響を解析するために BMP4 のコンディショナルノックアウトマウスから海馬分散培養を作成し、スパイン形態とシナプス形成・消失に対する影響について解析し新たな知見を得た。
4. BMP4 の神経細胞内における局在を調べるため、BMP4-HA を神経細胞に発現させ、BMP4 の神経細胞における分布について解析した。また BMP4 の分子動態を調べるため BMP4-EGFP, BMP4-mCherry を神経細胞に発現させ、ライブイメージングを行った。
5. 細胞外へ表出した BMP4 をモニターするために、BMP4-SEP (Superecliptic pHluorin) を作成し神経細胞における挙動を解析した。その結果、細胞外に分泌された BMP4 の膜上拡散速度について所見を得ることが出来た。
6. BMPRI の存在と BMP4 の細胞膜上での集積の関連を明らかにするため、BMPRI の発現を shRNA によって増減させ、それに伴う細胞膜上の BMP4 の挙動を解析し、BMPRI による BMP4 の細胞膜上での拡散の制御機構を明らかにした。

7. synaptophysin-tagRFP-T と BMP4-SEP を培養神経細胞に発現させ、軸索膜表面の BMP4 とシナプス前部構造の動態をタイムラプス観察することで、軸索膜での BMP4 の局在とシナプス前部構造の動態の関連性を明らかにした。

以上、本論文は海馬培養神経細胞のシナプス形成期において BMP4 の機能、局在、動態を解析することで、BMP4 はシナプス構造の動態を制御する分子である事、また一旦細胞外に放出された BMP がシナプスの構造的安定性を制御する分子機構を明らかにした。本研究はシナプス形成・維持過程におけるシナプスの安定性を制御する分子機構の理解に寄与すると考えられ、学位の授与に値するものであると考えられる。